

Departement für Nutztiere, Abteilung für Schweinemedizin
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Christian Gerspach

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von
Prof. Dr. med. vet. Xavier Sidler

Feldversuch zur oralen Lebendvakzine Coliprotec® F4/F18 gegen Absetzferkeldurchfall in der Schweiz

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Manuel Stirnimann

Tierarzt
von Buttisholz, LU

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Xavier Sidler, Referent
Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. Roger Stephan, Korreferent

2021

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	4
2 Abstract	5
3 Einleitung	6
4 Material und Methoden	8
4.1 Betriebsauswahl	8
4.1.1 Betrieb 1	8
4.1.2 Betrieb 2	8
4.1.3 Betrieb 3	9
4.1.4 Betrieb 4	9
4.2 Vorgehen	10
4.2.1 Isolierung, phänotypische Resistenzbestimmung und Sequenzierung Coliprotec® F4/F18 Stämme	11
4.3 Statistische Analyse	11
5 Ergebnisse	12
5.1 Mortalität	12
5.2 Behandlungshäufigkeit	13
5.3 Tageszunahmen	14
5.4 Diagnostische Resultate	14
5.5 Resistenzprofil Coliprotec® F4/F18	16
6 Diskussion	19
7 Schlussfolgerung	23
8 Literatur	24
Danksagung	
Curriculum Vitae	

1 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die Wirksamkeit der oralen Lebendvakzine Coliprotec® F4/F18 gegen Absetzferkeldurchfall untersucht, mit dem Ziel den Antibiotikaeinsatz zu minimieren, die Mortalität zu senken und die Tageszunahmen zu steigern.

Insgesamt wurden 1503 Ferkel aus 135 Ferkelwürfen von vier verschiedenen Betrieben mit Absetzferkeldurchfallproblematik untersucht. Die Ferkel eines Wurfs wurden zufällig in eine Kontrollgruppe und eine Impfgruppe unterteilt und markiert. Das Körpergewicht der Ferkel wurde beim Impfen, Absetzen und vor dem Verkauf ermittelt und die Tageszunahmen berechnet. Zudem wurde die Abgangsrate sowie der Anteil mit Antibiotika behandelter Ferkel mittels elektronischem Behandlungsjournal erfasst. Geimpfte Ferkel zeigten in drei von vier Betrieben eine bessere Tageszunahme, allerdings nur in einem Betrieb mit statistischer Signifikanz ($p < 0.001$). In drei von vier getesteten Betrieben konnte prozentual eine geringere Mortalität in der Impfgruppe als in der Kontrollgruppe festgestellt werden. Die Behandlungshäufigkeit war in allen getesteten Betrieben in der Impfgruppe prozentual kleiner als in der Kontrollgruppe. In weiterführenden Untersuchungen konnte aus dem Impfstoff zwei *E. coli*-Subkulturen isoliert werden, welche Antibiotikaresistenzen gegen Ampicillin, Neomycin, Tetracyclin und Trimethoprim-Sulfonamid aufwiesen. Die für die Resistenzen codierenden Gene können über mobile genetische Elemente übertragen werden.

2 Abstract

In the present study the efficacy of the oral live vaccine Coliprotec® F4/F18 against post-weaning diarrhea was investigated with the aim of reducing the use of antibiotics, minimizing the mortality rate and increasing the daily weight gain. In total, 1503 piglets out of 135 litters from four different farms with post weaning diarrhea problems were examined. The piglets of one litter were randomly divided into a control group and a vaccination group and ear tagged. The body weight of the piglets was determined during vaccination, weaning and before the sale and the daily weight gain was calculated. The mortality rate and the proportion of piglets treated with antibiotics were also calculated using an electronic treatment journal. Vaccinated piglets showed a higher daily weight gain in three out of four farms, but only in one farm with statistical significance ($p < 0.001$). In three out of four farms tested, the mortality rate was lower in percentage in the vaccination group than in the control group. The percentage of antibiotics used was lower in the vaccination group than in the control group in all tested farms. In further investigations, two *E. coli*-subcultures could be isolated from the vaccine, which showed antibiotic resistance to ampicillin, neomycin, tetracycline and trimethoprim-sulfonamide. The genes coding for the resistance can be transmitted via mobile genetic elements.

3 Einleitung

Saug- und Absetzferkeldurchfall (Postweaning diarrhea, PWD), verursacht durch *Escherichia (E.) coli*, führen weltweit zu erheblichen ökonomischen Verlusten in der Schweineproduktion infolge erhöhter Morbidität und Mortalität, Gewichtsverlust, Kümmeren und Therapiekosten^{14,28,30,48,56}. Bei PWD erkranken Ferkel typischerweise in den ersten Wochen nach dem Absetzen an Durchfall und können nach einer kurzen Krankheitsdauer wegen starker Dehydratation sterben^{4,14}. Als hauptsächliche Krankheitserreger werden enterotoxische *E. coli* (ETEC) beschrieben^{14,27}, welche mittels F4 oder F18 Fimbrien an die intestinale Mucosa adhärieren und durch Produktion von Enterotoxinen zu einem sekretorischen Durchfall führen^{14,34}.

Der Einsatz von Antibiotika, vornehmlich Colistin^{8,21}, galt lange als Goldstandard zur Reduktion von PWD. Nicht nur in schweinedichten Ländern werden Antibiotikaresistenzen bei Durchfall-*E. coli* Isolaten beschrieben^{6,31}, auch in der Schweiz werden zunehmend Studien publiziert^{7,26,36,47}. In vielen Ländern^{12,50} und seit Januar 2019 auch in der Schweiz (ISABV)⁴³ werden Programme zur Erfassung der Antibiotikaverschreibungen und zur Überwachung der Antibiotika-Resistenzentwicklung entwickelt und etabliert.

Der prophylaktische Antibiotikaeinsatz und der Einsatz von sogenannten «highest priority critically important antimicrobials» werden von der Gesellschaft immer kritischer beurteilt und die weltweit steigende Antibiotikaresistenzlage verlangen neue Strategien bezüglich Bekämpfung von PWD. Mit Erfolg wurde das Zufüttern von Kastanientanninen¹⁶, Organischen Säuren¹⁵, Probiotika^{22,25} oder sogar von Bakteriophagen⁴⁶ zur Prophylaxe von PWD angewendet. Auch die Supplementierung von Zinkoxid zur Stabilisierung der Darmflora wird in vielen europäischen Ländern als Alternative zu Antibiotika bei der Bekämpfung von PWD empfohlen. Zinkoxidgehalten von 2400 bis 3000 ppm reduzieren PWD, die Mortalität und führen zu einem besserem Masttageszuwachs^{1,57}. Neben der hohen Umweltbelastung und einer möglichen Intoxikation beschreiben neue Studien aber auch das Potential der Co-Selektion von Antibiotikaresistenzen durch Zinkoxid^{10,51}.

Das Impfen trächtiger Muttersauen zur passiven Immunisierung der neu geborenen Ferkel stellt heutzutage eine der wirksamsten Massnahme zur Prävention der Saugferkel vor einer Infektion mit ETEC dar. Die Bandbreite maternaler Impfstoffe auf dem Markt ist relativ gross und mehrheitlich existieren Präparate zur parenteralen Applikation³⁴. Die kolostralen Antikörper nehmen aber mit zunehmendem Alter der Saugferkel ab und die passive lakto gene Immunität verschwindet mit dem Absetzen der Ferkel²⁹. Da die aktuellen Impfstoffe gegen

Durchfall vor allem das systemische und weniger das mucosale Immunsystem stimulieren⁵² und bei Schweinen die Peyerschen Platten Hauptbildungsort von IgA und IgM sind¹⁹, braucht es für die Prävention von PWD eine aktive intestinale mucosale Immunantwort. Der wohl logischste Weg zur Ausbildung einer solchen mucosalen Immunität ist die orale Verabreichung eines Impfstoffes. Coliprotec® F4/F18 (Prevtec Microbia GmbH, Kanada) ist eine orale bakterielle Lebendvakzine zur Stimulierung einer aktiven Immunität gegen ETEC F4 und F18 bei Schweinen. Das Lyophilisat enthält zwei lebende apathogene nicht attenuierte *E. coli* Stämme O8:K87 (F4ac, 1.3×10^8 bis 9.0×10^8 KBE/Dosis) und O141:K94 (F18ac, 2.8×10^8 bis 3.0×10^9 KBE/Dosis), welche auf natürliche Weise ihre Gene zur Enterotoxinproduktion verloren haben. Sonstige Bestandteile des Impfstoffes sind Dextran, Saccharose, Mononatriumglutamat sowie gereinigtes Wasser. Der Impfstoff induziert eine intestinale Immunität sowie eine serologische Reaktion sieben Tage nach der Impfung und soll nach Herstellerangaben 21 Tage lang Schutz bieten. Die Verabreichung des Impfstoffes geschieht um den 18. Tag post partum, mindestens aber 1 Woche vor dem zu erwartenden Durchfallgeschehen entweder über das Trinkwassersystem oder per Drench.

Ziel dieser Feldstudie war es, die Wirksamkeit der oralen Lebendvakzine Coliprotec® F4/F18 gegen Absetzferkeldurchfall unter Schweizer Management- und Haltungsbedingungen bezüglich Morbidität, Mortalität, Behandlungshäufigkeit und Tageszunahmen zu untersuchen.

4 Material und Methoden

4.1 Betriebsauswahl

Die Feldstudie wurde in vier Betrieben durchgeführt, welche nach folgenden Kriterien ausgesucht wurden: Durchfallproblematik beim Absetzen, erhöhter Antibiotika- und/oder Zinkoxideinsatz, Bereitschaft und Motivation der Betriebsleiter. Alle vier Betriebe hatten den SGD-A-Status.

4.1.1 Betrieb 1

Der Zuchtmastbetrieb umfasste 150 Muttersauen, 50 Remonten, 2 Eber und 420 Mastschweine. Pro Sau und Jahr werden 30 Ferkel abgesetzt. Sporadisch kam es zu Durchfällen nach dem Absetzen wobei eine Medizinierung mit Colistin oder Vital CST-222 während 10 Tagen durchgeführt wurde. Schwer an Durchfall erkrankte Absetzferkel wurden zusätzlich parenteral mit Sulfonamid-Trimethoprim therapiert. Zeitweise wurden verbotenerweise 3000 ppm Zinkoxid via Ergänzungsfuttermittel eingesetzt. Die Absetzställe wurden vor der Neubelegung mit einem Hochdruckreiniger gründlich gereinigt und desinfiziert.

4.1.2 Betrieb 2

Betrieb 2 umfasste 135 Muttersauen. Im Betrieb wird nach einem 3-Wochen-Rhythmus gearbeitet und die Ferkel werden nach 26 - 28 Tagen abgesetzt. Nach jedem Umtrieb werden sowohl Abferkel- wie auch Absetzstall gereinigt und desinfiziert. Als hauptsächliches Problem wurde Absetzferkeldurchfall wenige Tage nach dem Absetzen und Kümmeren, hervorgerufen durch *E. coli* und Rotaviren, diagnostiziert. Weder ein metaphylaktischer noch ein therapeutischer Einsatz von Colistin war von Erfolg gekrönt. Bis 10 Tage nach dem Absetzen wurden einzelne Durchfalltiere oder Kümmerer mit Pargenta-50 (Gentamycin) oder Synulox (Amoxicillin/Clavulansäure) und ab dem 10. Tag nach dem Absetzen mit Engemycin 10 % (Oxytetracyclin) therapiert. Die beste Wirkung hatte eine Gruppenbehandlungen mit Vital CST-222 (Chlortetracyclin, Sulfadimidin, Tylosin) bei Kümmerern und schwer an Durchfall erkrankten Ferkeln, welche vor der Behandlung in eine Krankenbucht separiert wurden.

4.1.3 Betrieb 3

Betrieb 3 hält 68 Muttersauen (\pm 3-Wochen-Rhythmus) und die Ferkel werden nach 28 Tagen abgesetzt. Der Betriebsleiter verzeichnete wegen Colientertoxämie eine Mortalitätsrate bei den Absetzferkeln von 5 - 20 %. Absetzferkeldurchfall war nur selten festzustellen. In Sammelkotproben sowie in Laboreinsendungen von zwei toten Schweinen konnte mehrmals F18ab und F18ac nachgewiesen werden. Zur Durchfall-Prophylaxe werden die Jungsauen am 75. und 90. Trächtigkeitstag mit Porcilis® ColiClos grundimmunisiert. Die Boosterung der Altsauen erfolgt um den 90. Trächtigkeitstag. Im Absetzstall werden die Buchten nach dem Ausstallen der Ferkel mit dem Hochdruckreiniger gereinigt (keine Desinfektion) und vor der Belegung über mehrere Tage abgetrocknet. Zur Prophylaxe wurden die Absetzferkel standardmässig fünf Tage nach dem Absetzen während 10 Tagen mit Sulfonamid/Trimethoprim in einer Dosierung von 50 g/100 kg KGW oral behandelt. Obwohl die Prophylaxe eine sehr gute Wirkung zeigte, wollte der Landwirt eine Alternative zur ständigen prophylaktischen Antibiose testen.

4.1.4 Betrieb 4

Betrieb 4 ist ein Abferkelbetrieb mit 30 Abferkelplätzen eines Ringsystems, welcher nach den Bio-Suisse Richtlinien Schweine produziert. Alle 4 Wochen ferkeln 15 Sauen ab und die Ferkel werden mit 45 Tagen abgesetzt. Trotz korrekter Immunisierung der Sauen mit Porcilis® ColiClos und einer Behandlungsintensität von ungefähr 60 % bei den Absetzferkel mit Amoxicillin/Clavulansäure (parenteral) respektive Colistin (oral), betrug die Mortalität bei den Absetzferkeln 5 - 15 % und die Kümmererrate ca. 10 - 20 %. Bei Laboruntersuchungen konnten mehrmals *E. coli* F4 und in der histologischen Untersuchung Zottenatrophie und -fusion ohne Rotavirus- oder Coronavirussnachweis diagnostiziert werden. Sowohl der Abferkel- als auch der Absetzstall werden vor jedem neuen Umtrieb gereinigt und desinfiziert.

4.2 Vorgehen

Um die Beeinflussung der Resultate einer genetischen Resistenz gegen *E. coli* F4 und F18 auszuschalten, wurden die Ferkel eines Wurfes jeweils am 16. - 18. Lebenstag zufällig in eine Kontrollgruppe und eine Impfgruppe unterteilt und mittels verschieden farbiger Ohrmarkenunterlagsscheiben markiert. Anschliessend wurden die Ferkel mit einer elektrischen Paketwaage (520 x 400 x 70 mm, Soehnle, AG, Nassau, Deutschland, Messgenauigkeit von ± 10 g) gewogen und mittels eines Drench Dosers oral 2 ml des Impfstoffes appliziert. Der Impfstoff wurde, wie in der Herstellerbeschreibung beschrieben, durch Hinzufügen von 10 ml Wasser zum Lyophilisat rekonstituiert, geschüttelt und mit Wasser auf ein Gesamtvolumen von 100 ml aufgefüllt. Sieben Tage nach dem Impfen wurden die Ferkel abgesetzt, erneut das Körpergewicht ermittelt und anschliessend in Buchten zu 40 Tiere eingestallt. Im Betrieb 1 wurden die Ferkel 40 Tage nach dem Absetzen und in den Betrieben 2, 3 und 4 am Tag 28 nach dem Absetzen erneut gewogen. Nach dem Impfen wurden die Ferkel jeden dritten Tag auf Zeichen wie Anorexie, Lethargie und Durchfall beobachtet. Der Schweregrad des Durchfalles wurde visuell bewertet und einem Durchfallscore zugeteilt wobei 0 = normaler geformter Kot, 1 = kuhfladenartiger, 2 = pastöser und 3 = flüssiger Kot entsprach. Ferkel mit Durchfallscore 3 wurden antibiotisch nach den jeweiligen Vorgaben des Bestandstierarztes parenteral therapiert (Sulfonamid-Trimethoprim oder Amoxicillin respektive Amoxicillin/Clavulansäure). Im Betrieb 3 wurde eine Einstallprophylaxe von 10 Tagen mit Sulfonamid-Trimethoprim bei den Kontrollgruppen durchgeführt, weil die Absetzferkel bis zum Versuch jeweils standartmässig zur Prophylaxe von PWD und Ödemkrankheit unter Antibiotika abgesetzt wurden. Alle Behandlungen wurden im elektronischen Behandlungsjournal (eBJ der Firmen SUISAG/Qualiporc) unter Angabe von TVD-OM, Wirkstoff, Dosierung, Behandlungsdauer und Angabe der Indikation erfasst. Während des Versuches wurden sporadisch Kottupfer von frisch an Durchfall erkrankten Ferkeln entnommen und bakteriologisch auf *E. coli* und deren Virulenzfaktoren sowie virologisch auf Rotaviren untersucht. Insgesamt wurden vier Durchfallferkel am Institut für Pathologie der Universität Zürich pathologisch untersucht, sowie bei drei akut verendeten Ferkel im Betrieb 1 eine Hofsektion durchgeführt.

4.2.1 Isolierung, phänotypische Resistenzbestimmung und Sequenzierung Coliprotec® F4/F18 Stämme

0.1 ml der Suspension des Impfstoffes wurde auf RAPID *E. coli* Platten (Biorad, München, Deutschland) ausgestrichen und bei 37°C für 24 Stunden bebrütet. Kolonien mit unterschiedlichen Koloniemorphologien wurden anschliessend auf Blutagarplatten (Oxoid Hampshire, UK) subkultiviert und wiederum bei 37°C für 24 Stunden bebrütet.

Die phänotypische Resistenzbestimmung erfolgte mittels VITEK Compact 2™ (BioMérieux, France).

Die DNA Extraktion der Stämme erfolgte mittels blood and tissue Kit (Qiagen, Hombrechtikon, Schweiz). Die Sequenzierung wurde unter Verwendung des Nextera DNA Flex-Probenvorbereitungskits (Illumina, San Diego, CA, USA) auf einem Illumina MiniSeq-Sequenzierer (Illumina, San Diego, CA, USA) durchgeführt. Die MLST-Typisierung wurde mit dem Tool "MLST" (<https://github.com/tseemann/mlst>) und der PubMLST-Datenbank (<https://pubmlst.org/>) durchgeführt. Das Vorhandensein von Resistenzgenen wurde unter Verwendung des Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) Version 2.10.1 auf einer CLC Genomics Workbench Version 20.0.3 überprüft.

4.3 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen wurden mit dem Programm IBM SPSS Version 23 für Mac durchgeführt. Zuerst wurden die vorliegenden Daten auf eine Normalverteilung geprüft. Dies geschah graphisch mittels Histogramms und Q-Q Diagramm und dem Kolmogorov-Smirnov Test. Waren die Werte normalverteilt, wurden der Mittelwert und die Standardabweichung bestimmt. Der Vergleich der normalverteilten Parameter zwischen der Impfgruppe und der Kontrollgruppe erfolgte mittels eines T-Tests. P-Werte < 0.05 wurden als signifikant beurteilt.

5 Ergebnisse

Die Feldstudie wurde im Zeitraum vom Januar 2019 bis März 2020 auf den oben genannten vier Betrieben durchgeführt. Die Studie umfasste insgesamt 788 Versuchs- und 715 Kontrolltiere. Im Betrieb 1 wurden 517 Ferkel aus 48 Würfen, im Betrieb 2 375 Ferkel aus 32 Würfen, im Betrieb 3 287 Ferkel aus 25 Würfen und 324 Ferkel aus 30 Würfen im Betrieb 4 in die Studie aufgenommen.

5.1 Mortalität

In drei von vier getesteten Betrieben konnte prozentual eine geringere Mortalitätsrate in den Impf- als in den Kontrollgruppen festgestellt werden (Abb. 1). Im Betrieb 3 lag die durchschnittliche Mortalitätsrate mit 2.7 % in den Impfgruppen höher als in den Kontrollgruppen, wo sie bei 2.2 % lag.

Im Betrieb 2 wurde die Krankheitsverteilung der Abgänge festgehalten und stellt sich wie folgt dar: 82.0 % Kümern, 9.0 % Ödem, 6.0 % Gelenkserkrankungen und 3.0 % unklare Todesfälle.

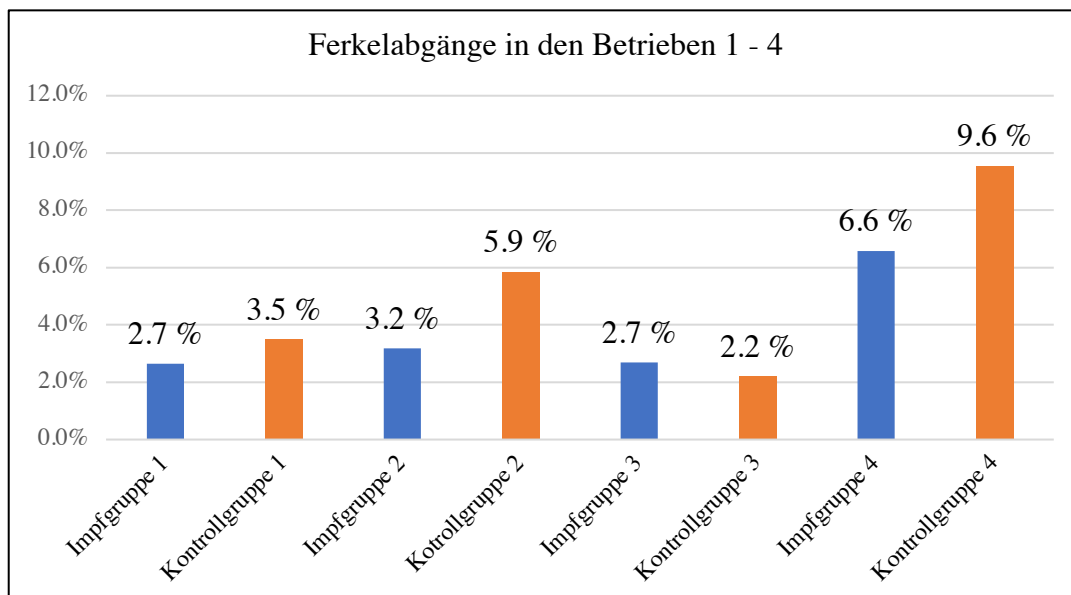


Abb. 1: Ferkelabgänge der Impf- und Kontrollgruppen in den Betrieben 1 – 4

5.2 Behandlungshäufigkeit

In drei von vier Betrieben konnte prozentual eine geringere Behandlungshäufigkeit in den Impf- als in den Kontrollgruppen festgestellt werden (Tab. 1). Im Betrieb 3 wurde eine standardmässige Einstallprophylaxe von 10 Tagen mit Sulfonamid-Trimethoprim bei den Kontrollgruppen durchgeführt, zusätzlich mussten vier Tiere (2.9 %) wegen Lahmheit mit Penizillin behandelt werden.

Tab. 1: Behandlungshäufigkeit (%) und eingesetzte Antibiotika der Impf- und Kontrollgruppen der Betriebe 1 - 4

	Impfgruppe	Kontrollgruppe	Antibiotika
Betrieb 1	11.7	16.0	Sulfonamid-Trimethoprim
Betrieb 2	25.0	29.0	Amoxicillin
Betrieb 3	5.4	100 * 2.9	Sulfonamid-Trimethoprim Penizillin
Betrieb 4	12.0	12.7	Amoxicillin/Clavulansäure

* standardmässige Einstallprophylaxe der Kontrollgruppen im Betrieb 3

5.3 Tageszunahmen

Nur im Betrieb 2 waren die geimpften Ferkel am Ende des Versuches signifikant schwerer als die der Kontrollgruppe ($p < 0.001$, Tab. 2). Im Betrieb 3 konnte eine signifikant geringere Tageszunahme der Impfgruppe festgestellt werden ($p = 0.006$).

Tab. 2: Mittlere Tageszunahmen (kg) der Impf- und Kontrollgruppe der Betriebe 1 - 4 ($\bar{x} \pm s$, Schwankungsbreite)

	Impfgruppe	Kontrollgruppe	p-Wert
Betrieb 1	0.405 ± 0.096 (0.125 – 0.660)	0.390 ± 0.104 (0.105 – 0.620)	0.089
Betrieb 2	0.184 ± 0.074 (0.001 – 0.327)	0.149 ± 0.080 (0.007 – 0.435)	< 0.001
Betrieb 3	0.326 ± 0.127 (0.024 – 0.600)	0.368 ± 0.128 (0.033 – 0.661)	0.006
Betrieb 4	0.292 ± 0.130 (- 0.002 – 0.638)	0.280 ± 0.131 (- 0.025 – 0.619)	0.407

5.4 Diagnostische Resultate

Im Rahmen dieser Feldstudie wurde je ein frisch an Durchfall erkranktes Ferkel der Impf- und Kontrollgruppe von Betrieb 1 euthanasiert und am Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich pathologisch untersucht. An Proben von Dünn- und Dickdarm wurde eine bakteriologische Untersuchung sowie eine parasitologische Untersuchung im Kot durchgeführt. Beim Ferkel der Kontrollgruppe konnte andeutungsweise makroskopisch lokal Ödeme der Magensubmukosa sowie ein Stirn- und Augenlidödem gefunden werden. In der bakteriologischen Untersuchung wurde Shigatoxin (Stx2e) nachgewiesen, allerdings ohne

Anheftungsfaktor (F18). Dasselbe Ferkel war auch *Cystisospira suis* positiv. In der parasitologischen Untersuchung konnte bei beiden Ferkeln ein mittelgradiger Gehalt an *Blastocystis* und *Balantidium* nachgewiesen werden. Beide Ferkel wiesen in der histologischen Untersuchung Zottenfusion und -atrophie im Jejunum auf. Bei drei hofsezierten Ferkeln konnte bei allen dünnbreiiger Inhalt im Jejunum, sowie bei einem Ferkel zusätzlich lokal Magenwand- und Lidödeme festgestellt werden. Im Betrieb 4 konnte bei zwei frisch verendeten an Durchfall erkrankten Ferkeln der Kontrollgruppe am Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich mittels PCR neben *E. coli* F4/F18 und Rotavirus A bei einem Ferkel auch *Lawsonia intracellularis* gefunden werden.

Während des Versuches wurden sowohl im Betrieb 1 als auch im Betrieb 2 gepoolte Kottupfer frisch erkrankter Ferkel auf Rotaviren am Virologischen Institut der Universität Zürich untersucht. Mittels real-time PCR konnten in beiden Betrieben Rotavirus A, B und C nachgewiesen werden (Tab. 3).

Tab. 3: Ct-Werte der Rotaviren A, B und C von gepoolten Kottupfern der Kontroll- und Impfgruppe im Betrieb 1 und Betrieb 2

	Betrieb 1	Betrieb 2
Rotavirus	Kontroll-/Impfgruppe	Kontroll-/Impfgruppe
Rota-A	35/38	29/23
Rota-B	23/32	34/31
Rota-C	0/32	39/38

5.5 Resistenzprofil Coliprotec® F4/F18

Am Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich wurden die *E. coli* Impfstämme aus Coliprotec® F4/F18 isoliert, sequenziert und auf etwaige Antibiotikaresistenzen untersucht. Aus dem Impfstoff konnten 2 Subkulturen (SK) isoliert werden. *E. coli* SK1 zeigte eine starke hämolytische Aktivität auf Schafblutagar, das *E. coli* Isolat SK2 zeigte keine Hämolyse. Für *E. coli* SK1 ist kein MLST Sequenztyp (ST) definiert, das Isolat SK2 gehört zum ST 666.

In beiden isolierten *E. coli* Stämmen konnten mittels VITEK Compact 2™ Antibiotikaresistenzen gefunden werden. Beide Subkulturen wiesen Resistenzen gegen Ampicillin und Tetracyclin auf, zusätzlich Neomycin in SK1 und Trimetophrim-Sulfonamid in SK2 (Tab. 4).

Die in beiden Subkulturen mittels BLAST gefundenen Resistenzgene sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Tab. 4: Resistenzprofil der aus Coliprotec® F4/F18 isolierten *E. coli* Stämme basierend auf den Ergebnissen des VITEK Compact 2™

	SK 1	SK 2
	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
ESBL **	- negativ	- negativ
Ampicillin	> = 32 R	> = 32 R
Amoxicillin/Clavulansäure	16 I	8 S
Ticarcillin/Clavulansäure	16 S	16 S
Cefalexin	16 I	8 S
Cefalotin	16 -	4 -
Cefoperazon	< = 4 S	< = 4 S
Ceftiofur	< = 1 S	< = 1 S
Cefquinom	< = 0.5S	< = 0.5S
Imipenem	< = 0.25S	< = 0.25S
Gentamicin	< = 1 S	8 I
Neomycin	> = 64 R	< = 2 S
Flumequin	< = 1 S	< = 1 S
Enrofloxacin	< = 0.12S	< = 0.12S
Marbofloxacin	< = 0.5S	< = 0.5S
Tetracyclin	> = 16 R	> = 16 R
Florfenicol	> = 32 -	8 -
Polymycin B	< = 0.25S	0.5 S
Trimetophrim-Sulfonamid	2/38 S	16/304 R

** Extended-Spectrum Beta-Lactamase

R = Resistent

I = Intermediär

S = Sensibel

Tab. 5: Resistenzgene, Antibiotikaklasse und Resistenzmechanismus der aus Coliprotec® F4/F18 isolierten *E. coli* Stämme

Resistenzgen	Antibiotikaklasse	Resistenzmechanismus	AMR Gen Familie
<i>TEM-1</i>	Cephalosporin, Monobactam	Inaktivierung Antibiotika	TEM beta-lactamase
<i>aad8A</i>	Aminoglycoside	Inaktivierung Antibiotika	ANT(3")
<i>aadA</i>	Aminoglycoside	Inaktivierung Antibiotika	ANT(3")
<i>APH(3')-Ia</i>	Aminoglycoside	Inaktiverung Antibiotika	APH(3')
<i>ANT(2'')-Ia</i>	Aminoglycoside	Inaktivierung Antibiotika	ANT(2'')
<i>APH(3'')-Ib</i>	Aminoglycoside	Inaktivierung Antibiotika	APH(3'')
<i>APH(6)-Id</i>	Aminoglycoside	Inaktivierung Antibiotika	APH(6)
<i>tet(D)</i>	Tetracycline	Effluxpumpen	major facilitator superfamily (MFS) antibiotic efflux pump
<i>tetR</i>	Tetracycline	Änderung Antibiotika-Zielstruktur	major facilitator superfamily (MFS) antibiotic efflux pump
<i>emrK</i>	Tetracycline	Effluxpumpen	major facilitator superfamily (MFS) antibiotic efflux pump
<i>emrY</i>	Tetracycline	Effluxpumpen	major facilitator superfamily (MFS) antibiotic efflux pump
<i>sul1</i>	Sulfonamide	Ersatz Antibiotika-Zielstruktur	sulfonamide resistant sul
<i>sul3</i>	Sulfonamide	Ersatz Antibiotika-Zielstruktur	sulfonamide resistant sul
<i>PmrF</i>	Peptid-Antibiotika	Änderung Antibiotika-Zielstruktur	pmr phosphoethanolamine transferase
<i>eptA</i>	Peptid-Antibiotika	Änderung Antibiotika-Zielstruktur	pmr phosphoethanolamine transferase
<i>mphG</i>	Makrolide	Inaktivierung Antibiotika	macrolide phosphotransferase (MPH)
<i>mphA</i>	Makrolide	Inaktivierung Antibiotika	macrolide phosphotransferase (MPH)

6 Diskussion

Obwohl in einer ähnlichen Studie die Wirksamkeit der oralen Lebendvakzine Coliprotec® F4/F18 gegen Absetzferkeldurchfall bestätigt werden konnte³³, war dies in der vorliegenden Studie nur begrenzt der Fall. In den Betrieben 1, 2 und 4 waren die Ferkel der Impfgruppe am Ende des Versuches schwerer als die der Kontrollgruppe doch nur im Betrieb 2 mit statistischer Signifikanz ($p < 0.001$). In drei von vier getesteten Betrieben waren prozentual weniger Abgänge in den Impfgruppen als in den Kontrollgruppen zu verzeichnen. In allen vier Betrieben musste prozentual in den Impfgruppen weniger Ferkel mit Antibiotika behandelt werden als in den Kontrollgruppen. Im Betrieb 3 waren die Ferkel der Kontrollgruppe am Ende des Versuches signifikant schwerer als die der Impfgruppe. Eine mögliche Erklärung wäre ein durch die Impfung induzierter erhöhter Metabolismus und dadurch Energie- und Proteinverbrauch des Organismus. Ausserdem wird Fieber und Apathie als mögliche Nebenwirkungen einer Impfung in der Veterinärmedizin beschrieben, was die Futteraufnahme der Ferkel reduzieren kann².

Mehrere Studien aus der Humanmedizin belegen nach einer aktiven Immunisierung der Mütter eine teilweise gehemmte Serokonversion bei den Kindern verursacht durch maternale Antikörper. Sarvas et al. (1992) konnte eine gehemmte IgG Produktion nach einer Tetanus-Toxoid Impfung neugeborener Kinder durch hohe maternale Titer von IgG feststellen⁴². In der Studie von Premenko-Lanier et al. (2006) wurde der Einfluss maternalen Antikörper auf eine attenuierte Masern Lebendvakzine untersucht³⁷. Neben der humoralen wurde auch die zelluläre Immunität negativ durch maternale Antikörper beeinflusst. Der Löwenanteil der Immunoglobuline in der Kolostralmilch der Sau besteht aus IgG²³. Nach zwei Wochen post partum beginnt der Anteil von IgA zu steigen und macht bis zu 40 % des Gesamtproteins am Ende der Laktation aus²³. Die Antikörpergehalte im Kolostrum und Ferkelserum korrelieren positiv¹¹. In der vorliegenden Studie wurden die Ferkel zwischen dem 16. und 18. Lebenstag geimpft. In dieser Zeitspanne beginnt, wie oben erwähnt, der Anteil an IgA im Kolostrum der Sau zu steigen. Aus diesem Schluss wäre auch in dieser Studie an eine mögliche Neutralisation der Impfantikörper zum Impfzeitpunkt durch maternale Antikörper zu denken, was die Bildung von Impfantikörper negativ beeinflussen könnte.

Katsuda et al. (2006) untersuchte 116 Kotproben von an Durchfall erkrankten Absetzferkeln²⁰. In 47.4 % der Proben konnte eine Mischinfektion detektiert werden, in 65.5 % war Rotavirus der Leitkeim und in nur 13.8 % der Fälle konnte alleinig *Escherichia coli* isoliert werden. Andere isolierte Pathogene waren alleinig oder in Kombination *Sapovirus*, *Cryptosporidium parvum* und *Kokzidien*²⁰. Dies zeigt, dass im Gegensatz zum Saugferkeldurchfall, wo in 60.8 % der Fälle die Ätiologie auf einen einzigen Pathogen zurückzuführen war, PWD ein multifaktorielles Geschehen ist. Dies bestätigen auch die letzten beiden Jahresberichte von PathoPig^{44,45}. Auffällig häufig konnte bei der Abklärung von Bestandesproblemen mit Durchfall Rotavirus A diagnostiziert werden. Auch in dieser Studie konnte sowohl in den gepoolten Kottupfern als auch in den pathologischen Untersuchungen Rotaviren nachgewiesen werden. Die in der histologischen Untersuchung dieser Studie examinierte Zottenfusion und -atrophie könnte ebenfalls für eine vorangegangene Rotavirus- oder *Cystispora*-Infektion sprechen. Allerdings entsteht auch eine Zottenatrophie durch eine verminderte Futteraufnahme der Ferkel nach dem Absetzen. Die meisten publizierten Studien beschränken sich auf die Untersuchung eines einzelnen Erregers, mehrheitlich ETEC, doch wie schon oben erwähnt ist PDW eine multifaktorielle Krankheit, die aus Interaktionen verschiedener Pathogene resultiert. Bis jetzt gibt es noch keine adäquate Literatur oder es herrschen kontroverse Meinungen bezüglich anderer potentieller PDW Pathogene. Für das Auftreten von PWD sind nicht nur verschiedene Pathogene beschrieben, auch Interaktionen zwischen der Muttersau und Ferkel, der Umwelt und Management und der Genetik der Muttersau spielen eine Rolle¹⁷.

Seit einigen Jahren wird an der genetischen Krankheitsresistenz gegen Ödemkrankheit und Colidurchfall geforscht⁵⁴. Schweine mit mutierten Genstellen, welche für die Rezeptoren für die *E. coli* Fimbrien F4 und F18 codieren, sind genetisch resistent gegen Infektionen mit dem entsprechenden Fimbrientyp⁵. Der dominant monokausale Erbgang für F18 Rezeptoren ist seit längerem bekannt und findet in der Schweiz schon seit einigen Jahren Anwendung in der Zucht resistenter Schweine. Mittels molekulargenetischer Techniken konnte auf dem Schweinechromosom 6 das verantwortliche Gen *FUT1* (α (1,2)-Fucosyltransferase 1) detektiert werden⁵. Der Erbgang für die ETEC-F4 Resistenz ist noch nicht abschliessend geklärt. Die Genloci (Schweinechromosom 13) sowie die genetischen Marker, welche mit grosser Sicherheit empfängliche und resistente Schweine gegenüber einer ETEC F4 Besiedelung unterscheiden können, sind bekannt¹⁸. Allerdings weiss man noch nicht, wie viele Gene tatsächlich involviert sind, weshalb vier Kandidatengene näher untersucht wurden⁵. In neuesten Untersuchungen konnte allerdings nur mit den beiden Markern *CHCF1*

und *CHCF3* auf Schweinechromosom 13 der Phänotyp richtig vorausgesagt werden. Eine Allelfrequenz von 0.6 beim Edelschwein, der am häufigsten eingesetzten Rasse in der Schweiz, bietet eine ideale Voraussetzung um in Zukunft genetische ETEC-F4 resistente Schweine zu züchten. Da die Empfänglichkeit des F4-Rezeptors dominant vererbt wird, muss aber die Selektion der F4-Resistenz zuerst bei den Eberlinien begonnen werden¹⁸.

Die genetische Resistenzzucht stellt längerfristig eine sehr wirksame Prophylaxestrategie gegen Absetzferkeldurchfall dar, welche jeglichen späteren Massnahmen wie Schutzimpfungen, Spezialfutter und Antibiotika überflüssig machen wird.

Die aus dem Impfstoff isolierten *E. coli* Stämme SK1 und SK2 tragen Antibiotikaresistenzen gegen Ampicillin, Neomycin, Tetracyclin und Trimethoprim-Sulfonamid. Die Mechanismen der Antibiotikaresistenzen lassen sich im Allgemeinen wie folgt klassifizieren: Enzymatische Modifikation des Antibiotikamoleküls durch chemische Alteration oder Zerstörung, Permeationsresistenz oder Effluxpumpen (Antibiotikum gelangt nicht in Bakterienzelle oder aktive Ausschleusung), Änderung oder Überproduktion der Zielstruktur (Antibiotika kann nicht an Zielstruktur binden), Resistenz durch globale Zellanpassung³².

In beiden isolierten Subkulturen konnte das Resistenzgen *TEM-1* gefunden werden, eines der häufigsten angetroffenen β -Lactamasen und verantwortlich für Resistenzen gegen Penicilline und Cephalosporine der 1. Generation⁴⁰. Die detektierte Aminoglycosid-Resistenz basiert auf enzymatische Modifikation und Inaktivierung der Aminoglycoside durch Acetyltransferasen, Nukleotidyltransferasen (*aad8A*, *aadA*, *ANT(2'')-Ia*) oder Phosphotransferasen (*APH(3')-Ia*, *APH(3'')-Ib*, *APH(6)-Id*)¹³. Die Gene sind auf sogenannten mobilen genetischen Elementen zu finden (Plasmide, Transposons), kommen aber auch chromosomal vor in gewissen Bakterien-Spezies³². Andere Mechanismen der Aminoglycosidresistenz, auf die hier nicht weiter eingegangen wird, sind erhöhter Ausfluss oder verminderte Permeabilität und Modifikation der 30S ribosomalen Untereinheit¹³.

Die Tetracyclin-Resistenzen sind durch sogenannte *tet* Gene codiert. Bisher sind 38 Gene bekannt, welche entweder über ribosomale Protektion, energieabhängige Effluxpumpen (*tet(D)*) oder durch inaktivierende Enzyme zu einer Tetracyclin-Resistenz der Bakterien führen³⁹. Die Expression einiger dieser *tet* Gene wird durch *tetR* (tetracycline transcriptional regulators) kontrolliert³⁸. Es werden chromosomale aber auch plasmidassoziierte *tet* Gene beschrieben²⁴, neuerdings werden auch *tet* Gene tragende Transposons und konjugative Transposons genannt, welche zusätzliche Antibiotika-Resistenzen tragen und/oder Resistenzen gegen Schwermetalle⁹. *EmrK* ist ein Membranfusionsprotein und gehört wie die

tet Gene zur MFS (Major-Facilitator-Superfamilie). Zusammen mit dem Transporterprotein *EmrY* und dem Membrankanal *TolC* vermittelt es multidrug efflux^{3,49}.

Ein weiteres Beispiel der enzymatischen Inaktivierung sind die im Resistenzprofil gefundenen *mphG* und *mphH* Gene. Die Gene codieren für Makrolid 2'-Phosphotransferasen, welche durch Phosphorylierung der 2'-Hydroxylgruppe des Aminozuckers zu einer Verhinderung der ribosomalen Bindung führen³⁵.

Lanz et al. (2003) konnte in seiner Studie 70 % der Sulfonamid-Resistenzen aus Schweine-Isolaten den Resistenzgenen *sul1* und *sul2* zuordnen²⁶. Mit *sul3* entdeckte Perreten et al. (2003) in seiner Studie ein neues Resistenzgen, welches die restlichen 30 % der Sulfonamid-Resistenzen erklären könnte. Die Gene codieren für eine Resistenz-vermittelnde Dihydropteroat-Synthase, deren Produkte eine geringere Affinität zu Sulfonamiden haben³⁶. Die Gene liegen auf konjugativen Plasmiden (extrachromosomale DNA-Elemente), welche den Bakterien den Austausch genetischen Materials über direkten Zell-zu-Zell Kontakt ermöglichen.

Die Resistenzgene *PmrF* und *eptA* gehören zur Familie der pmr Phosphoethanolamin-Transferasen. Durch Modifikation von Lipid A der Lipiddoppelschicht gramnegativer Bakterien kommt es zu einer Reduktion der negativen Ladung der äusseren Zellmembran und somit zur einer reduzierten Bindung von Polymixin B (Peptidantibiotika)⁴¹.

Brand et al. (2017) untersuchte in seiner Studie 131 *E. coli* Stämme isoliert aus an Durchfall erkrankten Schweinen auf Antibiotikaresistenzen⁷. Sie fanden ein ähnliches Resistenzprofil wie in der vorliegenden Studie: Dominierend waren Resistenzen gegenüber Tetracyclin (50.0 %), Sulfamethoxazol (49.0 %) und Trimethoprim (34.0 %) gefolgt unter anderem von Ampicillin (26.0 %).

Auch wenn Tetracyclin und Trimethoprim-Sulfonamid nicht die erste Wahl zur Bekämpfung von *E. coli*-Durchfall ist⁵³, muss eine Weiterverbreitung der Resistenzen verhindert werden. Zudem sind viele der gefundenen Resistenzgenen auf mobilen genetischen Elementen zu finden, welche auch zwischen verschiedener Bakterienspezies ausgetauscht werden können⁵⁵. Das aus dieser Studie hervorgegangene Antibiotika-Resistenzprofil von Coliprotec® F4/F18 betrachtend, ist ein Einsatz des Impfstoffes als äusserst kritisch zu beurteilen, um die im Impfstoff enthaltenen Resistenzen nicht weiter zu verbreiten.

7 Schlussfolgerung

Unsere Untersuchung zeigt, dass eine orale Lebendvakzine durch die Induktion einer spezifischen, aktiven mucosalen Immunantwort durch IgA eine weitere sinnvolle Massnahme zur Prävention von PWD darstellt. Ein Ziel dieser Studie war es, den Antibiotikaverbrauch und damit auch die Antibiotikaresistenzen zu minimieren. Weiter kommen wir zum Schluss, dass PWD ein multifaktorielles Geschehen ist, das neben verschiedenen Pathogenen auch Management Massnahmen betrifft. Ebenfalls zeigen unsere Untersuchungen, welche enorme Bedeutung eine zielführende Diagnostik in der Bekämpfung von PWD hat. Nichts desto trotz ist ein breiter Einsatz des in dieser Studie untersuchten Impfstoffes aufgrund Antibiotikaresistenzen der verwendeten Antigenstämme, welche zum Teil über mobile genetische Elemente übertragen werden können, als kritisch zu beurteilen.

8 Literatur

- ¹ Adewole D.I., Kim I.H., Nyachoti C.M.: Gut health of pigs: challenge models and response criteria with a critical analysis of the effectiveness of selected feed additives – a review. Asian-australas. J. Anim. Sci. 2016: 29; 909-924.
- ² Albrecht N., Ottiger H.P.: Vaccinovigilance: Gemeldete unerwünschte Wirkungen im Jahr 2017. Schweiz. Arch. Tierheilk. 2018: 160(10); 607-611.
- ³ Alcock B.P. et al.: CARD 2020: antibiotic resistome surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. Nucleic. Acids. Res. 2020: 48(D1); D517-D525. <https://card.mcmaster.ca/ontology/36345> (accessed 25.01.2021).
- ⁴ Amezcua R., Friendship R.M., Dewey C.E, Gyles C., Fairbrother J.M.: Presentation of postweaning *Escherichia coli* diarrhea in southern Ontario, prevalence of hemolytic *E. coli* serogroups involved, and their antimicrobial resistance patterns. Can. J. Vet. Res. 2002: 66; 73-78.
- ⁵ Bertschinger H.U., Bürgi E., Vögeli P.: Molekulargenetik statt Antibiotika: Nutzung von genetischer Krankheitsresistenz beim Schwein. Vierteljahresschr. Naturforsch. Ges. Zürich. 2008: 153(3/4); 93-98.
- ⁶ Boerlin P., Travis R., Gyles C.L., Reid-Smith R., Janecko N., Lim H., Nicholson V., McEwen S.A., Friendship R., Archambault M.: Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario. Appl. Environ. Microbiol. 2005: 71(11); 6753-6761.
- ⁷ Brand P., Gobeli Brawand S., Perreten V.: Pathotyping and antibiotic resistance of porcine enterovirulent *Escherichia coli* strains from Switzerland (2014-2015). Schweiz. Arch. Tierheilk. 2017: 159(7); 373-380.
- ⁸ Callens B., Persoons D., Maes D., Laanen M., Postma M., Boyen F., Haesebrouck F., Butaye P., Catry B., Dewulf J.: Prophylactic and metaphylactic antimicrobial use in Belgian fattening pig herds. Prev. Vet. Med. 2012: 106(1); 53-62.

- ⁹ Chopra I., Roberts M.C.: Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2001: 65, 232–260.
- ¹⁰ Ciesinski L., Guenther S., Pieper R., Kalisch M., Bednorz C., Wieler L.H.: High dietary zinc feeding promotes persistence of multi-resistant *E. coli* in the swine gut. *PLoS one*. 2018: 13(1).
- ¹¹ Damm B.I., Friggens N.C., Nielsen J., Ingvarsen K.L., Pedersen L.J.: Factors affecting the transfer of porcine parvovirus antibodies from sow to piglets. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2012: 49(9); 487-495.
- ¹² Deckert A., Gow S., Rosengren L., Léger D., Avery B., Daignault D., Dutil L., Reid-Smith R., Irwin R.: Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) Farm Programme: results from finisher pig surveillance. *Zoonoses Public Health*. 2010: 57 (1); 71-84.
- ¹³ Doi Y., Wachino J.I., Arakawa Y.: Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 2016: 30(2); 523-537.
- ¹⁴ Fairbrother J.M., Nadeau É., Gyles C.L.: *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: An update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim. Health Res. Rev.* 2005: 6(1); 17-39.
- ¹⁵ Giesting D.W., Easter R.A.: Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acids. *J. Anim. Sci.* 1985: 60(5); 1288-1294.
- ¹⁶ Girard M., Thanner S., Pradervand N., Hu D., Ollagnier C., Bee G.: Hydrolysable chestnut tannins for reduction of postweaning diarrhea: Efficacy on an experimental ETEC F4 model. *PLoS one*. 2018: 13(5).

- ¹⁷ Hong T., Linh N., Ogle B., Lindberg J.: Survey on the prevalence of diarrhea in pre-weaning piglets and on feeding systems as contributing risk factors in smallholdings in Central Vietnam. *Trop. Anim. Health Prod.* 2006: 38; 397-405.
- ¹⁸ Hu D.: Breeding for Enterotoxigenic *Escherichia Coli* F4ab/ ac Resistant Pigs: Reduction of Antibiotic Use by Genetic, Nutritional and Immunological Methods. Doctoral Thesis 2019, ETH No. 25764, Zurich.
- ¹⁹ Huyghebaert N., Snoeck V., Vermeire A., Cox E., Goddeeris B.M., Remon J.P.: Development of an enteric-coated pellet formulation of F4 fimbriae for oral vaccination of suckling piglets against enterotoxigenic *Escherichia coli* infections. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005: 59; 273-281.
- ²⁰ Katsuda K., Kohmoto M., Kawashima K., Tsunemitsu H.: Frequency of enteropathogen detection in suckling and weaned pigs with diarrhea in Japan. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2006: 18; 350-354.
- ²¹ Kempf I., Fleury M.A., Drider D., Bruneau M., Sanders P., Chauvin C., Madec J.Y., Jouy E.: What do we know about resistance to colistin in *Enterobacteriaceae* in avian and pig production in Europe? *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2013: 42(5); 379-383.
- ²² Kiers J.L., Meijer J.C., Nout M.J., Rombouts F.M., Nabuurs M.J., van der Meulen J.: Effect of fermented soya beans on diarrhea and feed efficiency in weaned piglets. *J. Appl. Microbiol.* 2003: 95(3); 545-552.
- ²³ Klobasa F., Werthan E., Butler J.E.: Composition of sow milk during lactation. *J. Anim. Sci.* 1987: 64(5); 1458-1466.
- ²⁴ Krey A.: Molekularbiologische Resistenzmechanismen und Therapieoptionen bei europäischen *Staphylococcus aureus* Isolaten. Dissertation 2004: Institut für Medizinische Mikrobiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

- ²⁵ Kyriakis S.C., Tsiloyiannis V.K., Vlemmas J., Sarris K., Tsinas A.C., Alexopoulos C., Jansegers L.: The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhea syndrome of piglets. *Res. Vet. Sci.* 1999; 67(3); 223-228.
- ²⁶ Lanz R., Kuhnert P., Boerlin P.: Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. *Vet. Microbiol.* 2003; 91 (1); 73-84.
- ²⁷ Luppi A., Gibellini M., Gin T., Vangroenweghe F., Vandenbroucke V., Bauerfeind R., Bonilauri P., Labarque G., Hidalgo A.: Prevalence of virulence factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs with post-weaning diarrhea in Europe. *Porcine Health Manag.* 2016; 2; 1-6.
- ²⁸ Lyutskanov M.: Epidemiological characteristics of post-weaning diarrhea associated with toxin-producing *Escherichia coli* in large intensive pig farms. *Trakia J. Sci.* 2011; 9(3); 68-73.
- ²⁹ McGhee J.R., Mestecky J., Dertzbaugh M.T., Eldridge J.H., Hirasawa M., Kiyono H.: The mucosal immune system: from fundamental concepts to vaccine development. *Vaccine.* 1992; 10; 75-88.
- ³⁰ Melkebeek V., Goddeeris B.M., Cox E.: ETEC vaccination in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2013; 152; 37-42.
- ³¹ Morales A.S., Fragoso de Araujo J., Moura Gomes V.T., Reis Costa A.T., dos Prazeres Rodrigues D., Porfida Ferreira T.S., de Lima Filsner P.H., Felizardo M.R., Micke Moreno A.: Colistin resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* strains isolated from swine in Brazil. *ScientificWorldJournal.* 2012; 109795.
- ³² Munita J.M., Arias C.A.: Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4(2).

- ³³ Nadeau É., Fairbrother J.M., Zentek J., Bélanger L., Tremblay D., Tremblay C.L., Röhe I., Vahjen W., Brunelle M., Hellmann K., Cvejic D., Brunner B., Schneider C., Bauer K., Wolf R., Hidalgo A.: Efficacy of a single oral dose of a live bivalent *E. coli* vaccine against post-weaning diarrhea due to F4 and F18-positive enterotoxigenic *E. coli*. *Vet. J.* 2017: 226; 32-39.
- ³⁴ Nagy B., Fekete P.Z.: Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 2005: 295(6-7); 443-454.
- ³⁵ Pawlowski A.C., Stogios P.J., Koteva K., Skarina T., Evdokimova E., Savchenko A., Wright G.D.: The evolution of substrate discrimination in macrolide antibiotic resistance enzymes. *Nat Commun.* 2018: 9(1); 112.
- ³⁶ Perreten V., Boerlin P.: A new Sulfonamide resistance gene (*sul3*) in *Escherichia coli* is widespread in the pig population of Switzerland. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003: P. 47 (3); 1169-1172.
- ³⁷ Premenko-Lanier, M., Hodge G., Rota P., Tamin A., Bellini W., McChesney M.: Maternal antibody inhibits both cellular and humoral immunity in response to measles vaccination at birth. *Virology.* 2006: 350(2); 429-432.
- ³⁸ Ramos J.L., Martínez-Bueno M., Molina-Henares A.J., Terán W., Watanabe K., Zhang X., Gallegos M.T., Brennan R., Tobes R.: The *TetR* family of transcriptional repressors. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2005: 69(2); 326-356.
- ³⁹ Roberts M.C.: Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiol Lett.* 2005: 245(2):195-203.
- ⁴⁰ Salverda M.L., De Visser J.A., Barlow M.: Natural evolution of *TEM-1* β -lactamase: experimental reconstruction and clinical relevance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010: 34(6); 1015-1036.
- ⁴¹ Samantha A., Vrielink A.: Lipid A Phosphoethanolamine Transferase: Regulation, Structure and Immune Response. *J. Mol. Biol.* 2020: 432(18); 5184-5196.

- ⁴² Sarvas H., Kurikka S., Seppälä I. J., Mäkelä P. H., Mäkelä, O.: Maternal antibodies partly inhibit an active antibody response to routine tetanus toxoid immunization in infants. J. Infect. Dis. 1992: 165(5); 977–979.
- ⁴³ Schweizerische Eidgenossenschaft. Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen. Informationssystem Antibiotika in der Veterinärmedizin (IS ABV): Weiterer Schritt bei der Erfassung von Antibiotika. Bern, CH <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierarzneimittel/antibiotika/isabv.html> (accessed 08.01.2020).
- ⁴⁴ Schweizerische Eidgenossenschaft. Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen. Jahresbericht PathoPig 2018. April 2019. 420/2016/00105 \ COO.2101.102.6.903201 \ 000.00.02
- ⁴⁵ Schweizerische Eidgenossenschaft. Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen. Jahresbericht PathoPig 2019. Mai 2020. 420/2016/00105 \ COO.2101.102.7.1025722 \ 000.00.02
- ⁴⁶ Smith H.W., Huggins M.B.: Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhea in calves, piglets and lambs. J. Gen. Microbiol. 1983: 129(8); 2659-2675.
- ⁴⁷ Stannarius C., Bürgi E., Regula G., Zychowska M.A., Zweifel C., Stephan R.: Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from Swiss weaned pigs and sows. Schweiz. Arch. Tierheilk. 2009: 151(3); 119-125.
- ⁴⁸ Svensmark B., Nielsen K., Willeberg P., Jorsal S.E.: Epidemiological studies of piglet diarrhea in intensively managed Danish sow herds. II. Post-weaning diarrhea. Acta. Vet. Scand. 1989: 30; 55-62.
- ⁴⁹ Tanabe H., Yamasaki K., Furue M., Yamamoto K., Katoh A., Yamamoto M., Yoshioka S., Tagami H., Aiba H.A., Utsumi R.: Growth phase-dependent transcription of *emrKY*, a homolog of multidrug efflux *emrAB* genes of *Escherichia coli*, is induced by tetracycline. J. Gen. Appl. Microbiol. 1997: 43(5); 257-263.

- ⁵⁰ Tollefson L., Flynn W.T., Headrick M.L.: Regulatory activities of the U.S. Food and Drug Administration designed to control antimicrobial resistance in foodborne pathogens. In M. E. Torrence and R. E. Isacson (ed), Microbial food safety in animal agriculture. Iowa State Press, Ames. IA. 2003: 57-63.
- ⁵¹ Vahjen W., Pietruszynska D., Starke I.C., Zentek J.: High dietary zinc supplementation increases the occurrence of tetracycline and sulfonamide resistance genes in the intestine of weaned pigs. Gut. Pathog. 2015: 7; 23.
- ⁵² Van den Broeck, W., Cox E., Goddeeris B.M.: Induction of immune responses in pigs following oral administration of purified F4 fimbriae. Vaccine. 1999a: 17; 2020-2029.
- ⁵³ Vetsuisse Fakultät, GST: Umsichtiger Einsatz von Antibiotika bei Rindern, Schweinen und kleinen Wiederkäuern. Therapieleitfaden für Tierärztinnen und Tierärzte. Erarbeitung durch die Vetsuisse-Fakultät in Zusammenarbeit mit der Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte (GST) unter Koordination des Bundesamtes für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV). November 2019: 82-95. www.therapieleitfaden.blv.ch
- ⁵⁴ Vögeli P., Meijerink E., Fries R., Neuenschwander S., Vorländer N., Stranzinger G., Bertschinger H.U.: A molecular test for the detection of *E. coli* F18 receptors: a breakthrough in the struggle against edema disease and post-weaning diarrhea in swine. Schweiz. Arch. Tierheilk. 1997: 139; 479-484.
- ⁵⁵ Wiedenbeck J., Cohan F.M.: Origins of bacterial diversity through horizontal genetic transfer and adaptation to new ecological niches. FEMS Microbiol. Rev. 2011: 35(5); 957-976.
- ⁵⁶ Zhang W., Zhao M., Reusch L., Omot A., Francis D.: Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains recently isolated from young pigs with diarrhea in the US. Vet. Microbiol. 2007: 123(1-3); 145-152.
- ⁵⁷ Zhu C., Lv H., Chen Z., Wang L., Wu X., Chen Z., Zhang W., Liang R., Jiang Z.: Dietary zinc oxide modulates antioxidant capacity, small intestine development, and jejunal gene expression in weaned piglets. Biol. Trace. Elem. Res. 2017: 175; 331-338.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben, ganz herzlich danken, insbesondere:

Herrn Prof. Dr. med. vet. Xavier Sidler für die Überlassung des Themas, die stets gewährte freundliche Betreuung und Korrektur der Arbeit.

Den betreuenden Tierärzten der Betriebe 2 bis 4 für die Durchführung der Impfung und Erhebung der Messdaten.

Den Betriebsleitern für die Bereitschaft ihren Betrieb zur Verfügung zu stellen sowie an deren Arbeiter für die tatkräftige Unterstützung während des Versuches.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Roger Stephan, Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, für die Isolierung der Impfstämme sowie die nachfolgende Sequenzierung und Durchführung der Resistenztests.

Frau med. vet. Patricia Sutter für das Zusammenstellen und Digitalisieren der Daten.

Meiner ganzen Familie für die moralische und finanzielle Unterstützung während meiner Ausbildung.

Curriculum Vitae

Vorname Name	Manuel Stirnimann
Geburtsdatum	29.04.1991
Geburtsort	Frauenfeld TG, Schweiz
Nationalität	Schweizer
Heimatort	Buttisholz LU

Schulausbildung

08/1998 – 07/2004	Primarschule Eschenz TG, Schweiz
08/2004 – 07/2006	Sekundarschule Eschenz TG, Schweiz
08/2006 – 07/2010	Kantonsschule Frauenfeld TG, Schweiz

Höchster Schulabschluss

02.07.2010	Matura Kantonsschule Frauenfeld TG, Schweiz
------------	---

Studium

09/2012 – 09/2017	Veterinärmedizin, Universität Zürich, Schweiz
-------------------	---

Abschlussprüfung vet. med.

29.12.2017	Universität Zürich, Zürich, Schweiz
------------	-------------------------------------

01/2019 – 02/2021 **Anfertigung der Dissertation**

unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. Xaver Sidler
am Departement für Nutztiere, Abteilung für Schweinemedizin
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. med. vet. Christian Gerspach

seit 02/2018	Assistentztierarzt, Tierklinik Stockrüti AG Berg TG, Schweiz
--------------	--